Histología de ovario en hembras vitelogénicas de *Leptodactylus latinasus* (Anura, Leptodactylidae)

Pucci Alcaide, Ana[1]; María Laura Ponssa[2]; Franco J. Pucci Alcaide[3]; María F. Alcaide[1,3]

[1] Facultad de Ciencias Naturales e Inst. Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, Miguel Lillo 205, (4000) S. M. de Tucumán, Argentina.

[2] CONICET, Instituto de Herpetología, Fundación Miguel Lillo, Miguel Lillo 251, (4000) S. M. de Tucumán, Argentina, mlponssa@hotmail.com

[3] Insituto de Morfología Animal, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) S. M. de Tucumán, Argentina.

➤ **Resumen** — *Leptodactylus latinasus* pertenece al grupo *L. fuscus*, cuyas especies construyen cámaras donde colocan un nido de espuma, donde luego se desarrollan los primeros estadios larvales. El objetivo de este trabajo fue describir la histología de ovarios vitelogénicos en hembras de *Leptodactylus latinasus*. Veintiocho hembras fueron procesadas, algunas al momento de ser colectadas en el campo, mientras que otras fueron colocadas en el laboratorio en presencia de machos, con cámaras de barro construídas artificialmente. Los ovarios fueron fijados en formol bufferado y procesados con técnicas histológicas de rutina. Se reconocen alteraciones ováricas en ovocitos vitelogénicos que impiden el proceso de reproducción, tales como: (1) pocos ovocitos vitelogénicos no atrésicos; (2) atresia periférica; (3) atresia invasiva hacia el centro de ovocitos con alteración del vitelo; (4) casi completa vacuolización lipídica, cuerpos apoptóticos; (5) desprendimiento de células foliculares en algunos ovocitos; (6) disminución del tamaño ovocitarios. Además, es notable la intromisión de los cuerpos grasos en los ovocitos, con vasos, células fibroblásticas y macrófagos. La atresia masiva de ovocitos observada en hembras vitelogénicas no fue descripta en otras especies de anuros. Esto estaría indicando que las condiciones para la ovulación no fueron óptimas. El amplexo y la ovoposición de esta especie ocurren en cámaras de barro, las cuales constituyen un microhábitat donde las condiciones serían las apropiadas para la reproducción. Así, los resultados obtenidos sugieren que si las condiciones microambientales no son favorables, no se produce la reproducción, y los ovarios sufren atrofia masiva.

Palabras clave: Histología, ovario, vitelogénesis, cuerpo graso, atresia *Leptodactylus latinasus*.

➤ **Abstract** — "Ovarian histology in vitellogenic females of *Leptodactylus latinasus* (Anura, Leptodactylidae)". *Leptodactylus latinasus* belongs to the *L. fuscus* group. Species belonging to this group build incubation chambers where they place a foam nest, after which the first larval stages start developping. The goal of this study was to describe the histology of vitellogenic ovaries in *L. latinasus*. Twenty–eight females were used. Some were processed immediately after they were collected, whereas others were placed in the presence of males, with artificially built incubation chambers, under lab conditions. The ovaries were fixed in buffered formalin and routine histological techniques were used to examine the samples. Different degrees of ovarian alterations in vitellogenic oocytes, which prevented the process of reproduction, were observed: 1) few non atresic vitellogenic oocytes; 2) peripheral atresia; 3) invasive atresia towards the center of oocytes with alteration of the vitellus; 4) almost complete lipid vacuolization, apoptotic bodies; 5) detachment of follicular cells in some oocytes; 6) decrease in oocyte size. Furthermore, the intromission of fat bodies in the oocytes, with vases, fibroblastic cells and macrophages was noticeable. The massive atresia of the oocytes in vitellogenic females has not been previously reported in other anurans. This would indicate that the conditions for ovulation were not optimal. Amplexus and oviposition of this species occur inside incubation chambers of mud, which constitute a microhabitat where

Recibido: 12/12/11 – Aceptado: 12/06/12

conditions would be appropriate for reproduction. Thus, these results suggest that if the environmental conditions are not favorable, reproduction does not occur, and the ovaries suffer massive atrophy.

Keywords: histology, ovary, vitellogenesis, fat body, atresia, *Leptodactylus latinasus*.

INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Leptodactylus* han sido agrupadas en cinco grupos, que por sus particularidades en los modos de puesta, representan un excelente ejemplo de transición desde un modo de vida acuática a una terrestre (Heyer, 1969). Así, las especies de los grupos *L. ocellatus* y *L. melanonotus* desovan en nidos de espuma en la superficie del agua, las especies del grupo *L. pentadactylus* en depresiones en los bordes de charcos o cuerpos de agua, y las especies de los grupos *L. fuscus* y *L. marmoratus* en cámaras incubatrices (Heyer, 1969). Algunos autores (*e.g.*, Hero y Galatti, 1990; Prado *et al.*, 2002) han considerado modos de reproducción intermedios a los previamente descriptos. Por ejemplo, poblaciones del Pantanal, Brasil, de *L. podicipinus*, un miembro del grupo *L. melanonotus*, deposita los huevos en nidos de espuma en depresiones naturales o construidas por los machos (Martins, 1996).

Leptodactylus latinasus es una especie de pequeño tamaño del grupo *L. fuscus* (longitud hocico-cloaca del macho 31,2 ± 1,7 mm, y de la hembra 33,0 ± 1,9 mm; Heyer, 1978). El macho de esta especie construye con su hocico cámaras de barro, donde ocurre el amplexo, el desove del nido de espuma, y se desarrollan los primeros estadios larvales, aún antes del comienzo de las primeras lluvias (Gallardo, 1958, 1964). Las larvas completan su desarrollo en los charcos que se forman cuando comienza el período lluvioso. Este comportamiento le confería a la especie ventaja sobre otras que se desarrollan en el mismo cuerpo de agua, ya que las larvas se encuentran en estadios más avanzados del desarrollo al comenzar la época de lluvia (Heyer, 1969). Este particular desarrollo larval y la capacidad de los renacuajos de generar su propia espuma, le permite a esta especie resistir la desecación, en caso de períodos prolongados de sequía (Downie, 1984, 1989, 1990, 1994; Caldwell y Lopez, 1989; Downie y Smith, 2003; Ponssa y Barrionuevo, 2008). Así, el modo reproductivo de *L. latinasus* representa una tendencia hacia la terrestrialidad, la cual ha sido relacionada con producción de pocos huevos grandes, con abundante vitelo (Salthe y Duellman, 1973).

En una íntima asociación con las gónadas, los anfibios presentan cuerpos grasos; ambos órganos comparten un origen embriológico común (Duellman y Trueb, 1994). Se han inferido muchas funciones de los cuerpos grasos por ser órganos de síntesis y almacenamiento de grasas que constituyen un depósito de energía suficiente para la hibernación (Schlaghecke y Blüm, 1978). Además se ha demostrado que los cuerpos grasos tienen un rol fundamental en la foliculogénesis del ovario (Pierantoni *et al.*, 1983; Varriale *et al.*, 1988; Prasadmurthy y Saidapur, 2005).

Estudios histológicos (Alcaide, 2006; Alcaide *et al.*, 2009; Pucci Alcaide *et al.*, 2011) han demostrado la correlación entre la histomorfología del oviducto y los modos de ovoposición descritos por Lavilla (2004). Para el género *Leptodactylus,* se ha descripto en *Leptodactylus chaquensis*, un miembro del grupo *L. ocellatus*, una morfología oviductal casi idéntica a especies de la familia Leiuperidae (*Pleurodema borellii* y *Physalaemus biligonigerus*). Sin embargo, la estructura física de la espuma presentó diferencias que estarían relacionadas con variaciones en las secreciones de la glándula de la albúmina (Alcaide *et al.*, 2009). La histomorfología gonadal de especies del género *Leptodactylus* con modo de puesta fuera del agua no fue previamente descripta. Así, el objetivo de este trabajo es describir la histología gonadal en hembras vitelogénicas de *Leptodactylus latinasus*.

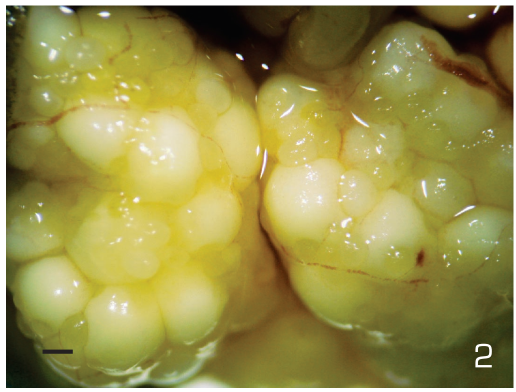
MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron hembras vitelogénicas de *Leptodactylus latinasus* (n = 28) (Fig. 1). Con el fin de estimular la ovulación, cinco de estas hembras fueron colocadas en el laboratorio en presencia de machos maduros y con cámaras de barro construidas artificialmente, similares a las construidas por la especie en el campo. Los ejemplares permanecieron en estas condiciones por un período no mayor de cuatro días. La permanencia en cautiverio no implicó sufrimiento para los ejemplares, ya que se construyó un terrario para replicar las condiciones naturales. Los ejemplares fueron colectados durante la época de lluvia (octubre-marzo del 2007 al 2010) en diversas localidades de la provincia de Tucumán, noroeste argentino. Los ejemplares de referencia están depositados en la colección del Instituto de Herpetología, y los preparados histológicos en la Histoteca del Instituto de Morfología Animal, ambas de la Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina (Apéndice 1).

Mediante observaciones bajo lupa, se realizó un análisis anatómico de los órganos reproductivos internos (ovario, cuerpo graso y oviducto) para determinar el estado reproductivo de las hembras**.** El análisis histológico se realizó en ovarios y cuerpos grasos de hembras vitelogénicas durante el período pre-ovulatorio. Las muestras fueron fijadas durante 24 horas en Formol bufferado (Formol 10 % en buffer fosfato, 0, 2 M a pH 7). Por las características del vitelo, las muestras fueron tratadas con acetato de butilo, alcohol n-butílico y/o Dioxano. Como medio de inclusión se usó Histowax (Leica). Se realizaron cortes seriados de 4 a 5 μm. Las muestras fueron coloreadas con Hematoxilina-Eosina (H-E), Tricrómico de Mallory y Hematoxilina de Veroheff.

Se siguió a Valdez Toledo y Pisanó (1980) para las descripciones de estadio y atresia folicular. Las observaciones se compararon con lo descripto para *Leptodactylus labyrinthicus* (Prado *et al.*, 2004), *Rhinella arenarum* (Echevarría y González, 1994), *Ceratophrys cranwelli* (Alcaide *et al.*, 2004), y las especies de desarrollo directo *Oreobates goini*, *O. planirostris, O. riparius, O. casparis, O. zugi* y *O. varleyi* (Rodriguez Gómez *et al.*, 2010). Las observaciones se realiza-





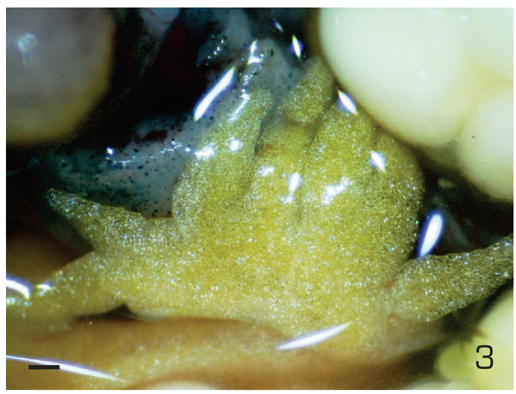


Figura 1: Ejemplar de *Leptodactylus latinasus* de El Ceibal, San Pablo, Provincia de Tucumán, Argentina. **Figura 2**: Ovario de *Leptodactylus latinasus.* Escala 1 cm = 0,045 mm. **Figura 3**: Cuerpo graso de hembra de *Leptodactylus latinasus* en período preovulatorio. Escala 1 cm = 0,027 mm.

ron con microscopio Leica DM 1000, lupa Leica EZ4, y se tomaron fotografías con cámara digital Sony Cyber-shot DSC-W100.

RESULTADOS

Se observaron ovarios vitelogénicos y oviductos preparados para el tránsito de los ovocitos, etapa durante la cual se forman las cubiertas ovocitarias específicas de la especie. La morfología observada evidencia el estadio reproductivo pre-ovulatorio (Figs. 2 y 3). No se logró estimular a las hembras mantenidas en el laboratorio, para obtener ovarios en períodos ovulatorios.

DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA GENERAL

Ovarios: los ovarios de los ejemplares estudiados están ligados a la pared del cuerpo por los mesovarios, los cuales están formados por un revestimiento mesotelial celómico de tejido conectivo denso no modelado con una conspicua vascularización y la presencia de tejido nervioso. El revestimiento peritoneal forma una cubierta de epitelio simple plano a cúbico al que subyace escaso tejido conectivo que contiene paquetes vásculo-nerviosos. El gran desarrollo de los folículos impide distinguir parénquima de estroma. En la corteza se observan folículos primordiales, primarios, secundarios y una destacada mayoría de folículos vitelogénicos, los que exhiben importantes variaciones histológicas-funcionales (Fig. 4).

Cuerpos grasos: los cuerpos grasos son estructuras que tienen íntima relación topográfica y funcional con las gónadas. Están estructurados en lóbulos de aspecto espumoso y macroscópicamente se observan variaciones de color de amarillo a anaranjado, a pesar de estar en un mismo período reproductivo. Histológicamente, el tejido adiposo corresponde a grasa blanca; se identifican núcleos periféricos y aplanados, vasos sanguíneos y cubierta de epitelio plano.

DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA PARTICULAR

Se observaron diferencias histológicas que permiten agrupar a los ovarios estudiados en cinco grupos. Estos grupos no representan estadios progresivos de avance, si no que fueron definidos según las características de las morfologías observadas:

Grupo 1 (n = 6) (Fig. 4). En el parénquima de la corteza se distinguen folículos primordiales, primarios y numerosos ovocitos vitelogénicos en un proceso de meiosis avanzada evidenciada por la migración de la vesícula germinativa y la envoltura vitelina desensamblada. Se distinguen las áreas en las que se distribuyen las plaquetas vitelinas, determinando un polo animal basófilo y una zona con las plaquetas vitelinas de aspecto homogéneo acidófila, el polo vegetativo. Las células foliculares fusiformes en algunos sectores se tornan polimorfas por la compresión con los folículos adyacentes. En la región cortical de los ovocitos se observa una delicada envoltura vitelina, gránulos corticales poco visibles por la falta de pigmento. En este grupo, se observan escasos ovocitos en proceso de apoptosis.

Grupo 2 (n = 6) (Fig. 5). Los lóbulos ováricos presentan folículos vitelogénicos, destacándose en uno de los lóbulos escasos ovocitos en proceso de apoptosis (folículos atrésicos).

Grupo 3 (n = 9) (Figs. 6 y 7). Los ovarios de estos ejemplares tienen en general las mismas características histológicas en cuanto a la corteza con presencia de folículos primarios, células foliculares, envoltura vitelina y estratos plaquetarios diferenciables. No obstante, se destaca en este grupo numerosos folículos vitelogénicos y escasos atrésicos que están en diferentes etapas de degeneración, evidenciado por el perfil lipídico. Se empaquetan las plaquetas y los contenidos citoplasmáticos con vacuolas lipídicas que ocupan la totalidad del ovocito.

Grupo 4 (n = 5) (Fig. 8, 9, 10, 11, 12 y 13). En estos ovarios todos los folículos han logrado completar su maduración nuclear y citoplásmica y casi todos están en proceso

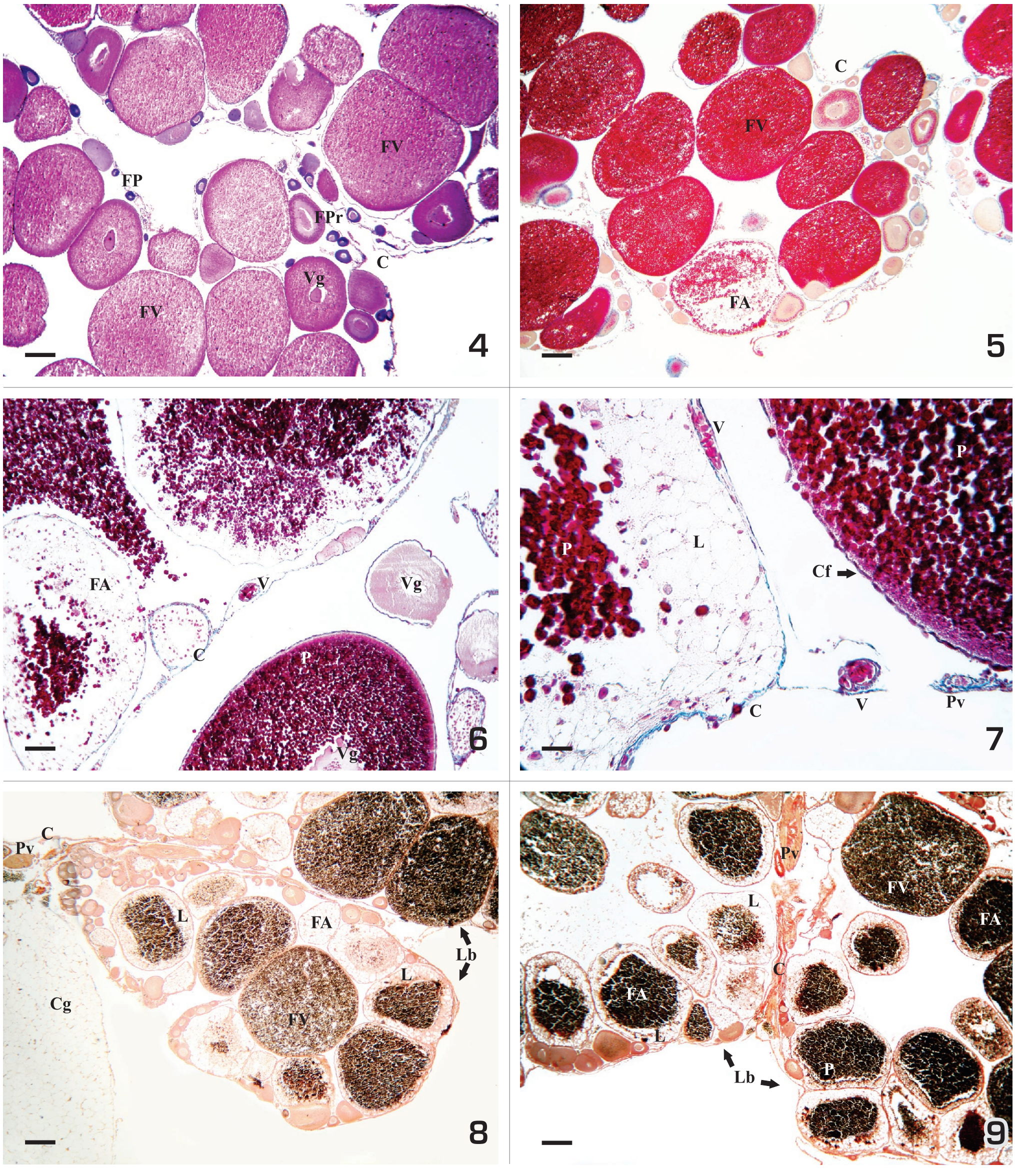


Figura 4: Corte histológico de ovario del grupo 1. Hematoxilina-Eosina (H-E). FV: Folículo Vitelogénico; C: Conectivo; FPr: Folículo Primario; FP: Folículo Primordial; Vg: vesícula germinativa. Escala 1 cm = 44 µm. **Figura 5:** Corte histológico de ovario del grupo 2. Tricrómico de Mallory. C: Conectivo; FA: Folículo Atrésico; FV: Folículo Vitelogénico. Escala 1 cm = 44 µm. **Figura 6:** Corte histológico de ovario del grupo 3. Tricrómico de Mallory. C: Conectivo; FA: Folículo Atrésico; V: Vaso sanguíneo; Vg: Vesícula germinativa. Escala 1 cm = 44 µm. **Figura 7:** Corte histológico de ovario del grupo 3. Tricrómico de Mallory. C: Conectivo; Cf: Células foliculares; L: Lípidos; Pv: Paquete vásculo-nervioso; V: Vaso sanguíneo. Escala 1 cm = 13 µm. **Figura 8:** Corte histológico de ovario del grupo 4. Hematoxilina Verhoeff. C: conectivo; Cg: Cuerpo graso; L: lípidos; Lb: Lóbulo ovárico; FA: folículo Atrésico; FV: Folículo Vitelogénico; Pv: Paquete vásculo-nervioso. Escala 1 cm = 44 µm. **Figura 9:** Corte histológico de ovario del grupo 4. Hematoxilina Verhoeff. C: conectivo; FA: Folículo Atrésico; FV: Folículo Vitelogénico; L: Lípidos; Lb: Lóbulo ovárico; P: Plaquetas vitelinas; Pv: Paquete vásculo-nervioso. Escala 1cm = 95 µm.

de atresia. El parénquima cortical presenta numerosos ovocitos primarios alterados. Histológicamente se observan paquetes vásculonerviosos con vasos de mediano y gran calibre. Hay un íntimo contacto con los lóbulos de los cuerpos grasos.

Se observan diferentes grados de alteraciones en los folículos que topográficamente no presentan un patrón regular. Se distinguen: (1) escasos ovocitos vitelogénicos no atrésicos; (2) inicio de atresia periférica con desaparición de la envoltura vitelina; (3) atresia más invasiva hacia el centro con alteración de las plaquetas vitelinas; (4) vacuolización lipídica casi total, escasas plaquetas vitelinas; (5) mayor cantidad de cuerpos apoptóticos; (6) no se observan células foliculares; (7) destacada disminución de los folículos; (8) intromisión de los cuerpos grasos dentro de los lóbulos con vasos y células fibroblásticas; (9) macrófagos que fagocitan de manera progresiva las plaquetas vitelinas y posiblemente los organoides citoplasmáticos. Este proceso permite identificar zonas que han sido invadidas por gotas lipídicas típicas de la grasa blanca, que se fusionan formando una imagen flocular clara (típica de la grasa que se disuelve en el proceso histológico de rutina). Además hay zonas basófilas con presencia de células cargadas de lípidos en gotas individuales (similar a grasa parda) de aspecto espumoso. El estroma sufre un proceso de disociación excepto en la zona del hilio donde ingresan los cuerpos grasos en la que hay fibras de colágeno y algunas células musculares lisas que forman haces. Esto demuestra un proceso degenerativo total.

Grupo 5 (n = 2) (Figs. 14, 15). Es notable en estos ovarios la degeneración de los folículos por un proceso similar de apoptosis seguida de atresia. Estos ovarios corresponden a una etapa previtelógenica avanzada, que no llegó a una etapa vitelogénica debido a la atresia folicular masiva. En algunos folículos, se observa el desamblaje de la envoltura por lo que los contenidos nucleares discurren entre las vacuolas lipídicas. En todos los folículos, se observan células foliculares, envoltura vitelina y la típica vacuolización lipídica del proceso de apoptosis. Se distinguen folículos de diferentes tamaños, unos con citoplasma acidófilos, y otros basófilos en los que no se reconocen las plaquetas vitelinas típicas, sino estructuras fibrilares. En el estroma hay una vascularización conspicua.

DISCUSIÓN

El análisis de la histología ovárica en *Leptodactylus latinasus* evidenció cinco tipos morfológicos, de los cuales, los Grupos 1, 2 y 3 corresponden a un patrón generalizado con folículos vitelogénicos y algunos atrésicos en diferentes etapas de degeneración; mientras que los Grupos 4 y 5, representan un patrón más particular, donde se observaron alteraciones que impedirían completar el proceso reproductivo. Así, los ovarios estudiados con folículos vitelogénicos, exhiben diferentes grados de atresia que conducen a la pérdida de su funcionalidad. También algunos folículos primarios y secundarios presentan atresia. Estas alteraciones no fueron observadas en otras especies de anuros, e.g., *Rhinella arenarum* (Echevarría y González, 1994), *Leptodactylus labyrinthicus* (Prado *et al.*, 2004), *Ceratophrys cranwelli* (Alcaide *et al.*, 2004), y especies de desarrollo directo *Oreobates goini*, *O. planirostris*, *O. riparius*, *O. casparis*, *O. zugi*, *O. varlleyi* (Rodríguez Gómez *et al.*, 2010). En estas y otras especies de anuros, el «patrón normal» de un ovario vitelogénico consiste en folículos vitelogénicos y escasos folículos atrésicos. La masiva atresia observada en ovarios maduros de *L. latinasus*, los cuales presentan maduración nuclear y citoplasmática completa, sugiere que existen mecanismos extrínsecos y/o intrínsecos que generan estímulos apoptóticos desencadenantes de la destrucción progresiva de los folículos ováricos. Es conocido que la cautividad produce reducción de los cuerpos grasos (Hoque y Saidapur, 1994) e incremento de la atresia de los ovocitos en varias especies de anuros (e.g. *Xenopus laevis*, Shapiro y Shapiro, 1934; *Rana pipiens*, Smalley y Nace, 1983; *Rana cyanophlyctis*, Saidapur y Prasadmurthy, 1988; Pancharatna y Saidapur, 1992). En *Rana ti-*

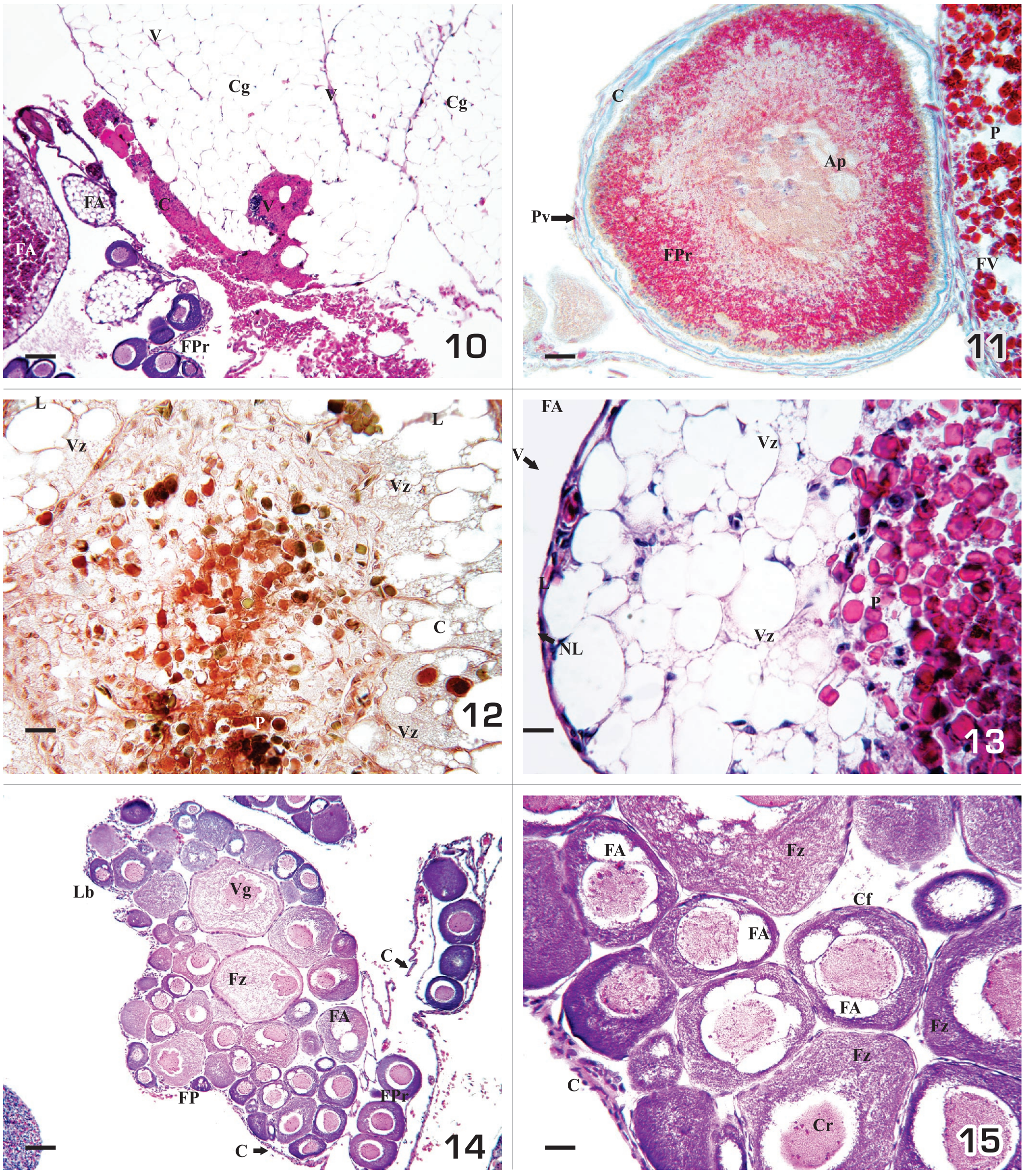


Figura 10: Corte histológico de ovario del grupo 4. Hematoxilina-Eosina (H-E). C: conectivo; Cg: Cuerpo graso; FA: Folículo Atrésico; FPr: Folículo Primario; V: Vaso sanguíneo. Escala 1cm = 44 μm. **Figura 11:** Corte histológico de ovario del grupo 4. Tricrómico de Mallory. Ap: apoptosis; C: conectivo; FPr: Folículo Primario; FV: Folículo Vitelogénico; P: Plaquetas vitelinas; Pv: Paquete vásculo-nervioso; Escala 1cm = 13 μm. **Figura 12:** Corte histológico de ovario del grupo 4. Hematoxilina Verhoeff. C: Conectivo; L: lípidos; P: Plaquetas vitelinas; Vz: Vacuolización. Escala 1cm = 13 μm. **Figura 13:** Corte histológico de ovario del grupo 4. Hematoxilina-Eosina (H-E). FA: Folículo Atrésico; L: lípidos; NL: Núcleo Lípido. P: Plaquetas vitelinas; V: Vaso sanguíneo; Vz: Vacuolización. Escala 1 cm = 13 μm. **Figura 14:** Corte histológico de ovario del grupo 5. Hematoxilina-Eosina (H-E). C: Conectivo; FA: Folículo Atrésico; FP: Folículo Primordial; FPr: Folículo Primario; Fz: Fibrilización; Lb: Lóbulo ovárico; Vg: Vesícula germinativa. Escala 1 cm = 95 μm. **Figura 15:** Corte histológico de ovario del grupo 5. Hematoxilina-Eosina (H-E). C: Conectivo; Cf: Células foliculares; Cr: Cromosomas; FA: Folículo Atrésico; Fz: Fibrilización; Escala 1 cm = 23 μm.

grina, se ha demostrado que en cautividad, a pesar de lograr el amplexo, las hembras no alcanzan la ovulación, resultando en huevos vitelogénicos con atresia.

En este estudio, los ejemplares mantenidos en el laboratorio, si bien no tuvieron un prolongado período en cautiverio, no entraron en las cámaras de barro artificiales, ni lograron el amplexo. Mayores estudios serían necesarios para determinar si existe una relación directa entre la atresia masiva observada y el tiempo en cautiverio. Sin embargo, los resultados reportados aquí no apoyarían esta relación directa, ya que los ejemplares del grupo 5 y tres del grupo 4, en cuyos ovarios se observó la atresia de mayor magnitud, no estuvieron en cautiverio, sino que fueron fijados al momento de ser colectados.

Otra particularidad observada en la especie estudiada es la estrecha relación anatómica e histológica entre el ovario y los cuerpos grasos. Esto fue evidente tanto en el parénquima como en el estroma ovárico. Tanto el contenido lipídico como el proteico de los cuerpos grasos son importantes en el mantenimiento de los procesos gonadales (Chieffi *et al.*, 1975; Milone *et al.*, 1983). La intromisión de los cuerpos grasos dentro de los lóbulos, particularmente en el grupo 4, permite inferir una activa participación de los mismos durante los procesos de involución en los ovarios. Es conocida la acción de ciertas proteínas (leptinas) presentes en el tejido adiposo que tienen relación directa con las hormonas esteroideas, las que frente a señales específicas desencadenarían este proceso biológico (Pallares Rodriguez, 2001; Fiorito *et al.*, 2008). En este proceso de degeneración, las alteraciones son numerosas: (1) conspicua vascularización estromal; (2) variaciones en la estructura de las plaquetas vitelinas con agrupamiento de las mismas, fragmentación, desintegración hasta llegar a una estructura fibrilar; (3) presencia de cuerpos apoptóticos en el citoplasma de los folículos; (4) transformación de los contenidos citoplasmáticos en vacuolas lipídicas de diferentes tamaños, por fusión de las mismas hasta llegar a ocupar la totalidad del folículo, desencadenando la disminución del tamaño folícular, proceso típico apoptótico; (5) presencia de lípidos del tipo de grasa parda con vacuolas pequeñas que se corresponden con la irrupción de los lóbulos del cuerpo graso.

Los mecanismos de involución ovárica son comunes en todos los ovarios de anuros, en los cuales se observa que durante el proceso de ovulación no todos los folículos llegan a atravesar el oviducto. Sin embargo, en *Leptodactylus latinasus*, la particularidad observada fue la magnitud de la masiva atresia folicular en los grupos 4 y 5, además de la estrecha relación entre los cuerpos grasos y los ovocitos, evidenciando la activa participación de los primeros en este proceso de apoptosis. En anuros, factores exógenos (e.g., temperatura, fotoperíodo, humedad) y endógenos (e.g., gonadotrofinas hipofisarias y estrógenos ováricos) regulan los eventos neuroendócrinos claves en la actividad gonadal (Chieffi *et al.*, 1980; Pancharatna y Saidapur, 1990; Gobetti y Zerani, 1992; Hoque *et al.*, 1995; Pancharatna y Patil, 1997; Gobetti *et al.*, 2000; entre otros). Así, se ha propuesto que las variaciones ambientales estarían sincronizadas con el patrón estacional de la actividad testicular (Chieffi *et al.*, 1980), del ciclo ovárico, y de cuerpos grasos, particularmente en las zonas templadas (Jörgensen *et al.*, 1979; Rastogi *et al.*, 1983; Saidapur y Hoque, 1995). En la especie estudiada, el amplexo y la puesta se realizan dentro de una cámara de barro construída por el macho (Gallardo, 1958), de manera que en este microambiente se darían las condiciones adecuadas para que ocurran los procesos fisiológicos desencadenantes de la reproducción. En las hembras de *L. latinasus* estudiadas, la falta de las condiciones ambientales proporcionadas por la cámara incubatriz podría haber ocasionado las particulares involuciones ováricas e invasiones lipídicas en los ovarios. Mayores estudios fisiológicos y etológicos serían necesarios para corroborar esta hipótesis. Por otro lado, y sin perder de vista que los ovarios son órganos dinámicos y plásticos del organismo, estudios moleculares de caspasas, citoquinas y algunos ligandos específicos de

muerte celular y hormonas reguladoras de este proceso, serían útiles para inferir las causas desencadenantes del proceso degenerativo.

AGRADECIMIENTOS

A Cecilia Guerra por facilitar numerosos ejemplares utilizados. MLP agradece a PICT 2008-578 (ANPCyT), PIP 112-200801-00225 (CONICET) y G430 (CIUNT).

LITERATURA CITADA

Alcaide, M. F. 2006. Relaciones entre oviducto de anuros y los modos de ovoposición en el agua. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.

Alcaide, M. F., Lavilla, E. O. y Pucci Alcaide, A. 2009. Histology and histochemistry of the albumin glands in some foam-nesting anurans. South American Journal of Herpetology, 4: 151-163.

Alcaide, M., Pucci Alcaide, A., Lavilla, E. y Fernández, S. 2004. Structural changes of the oocytes of *Ceratophrys cranwelli* (Anura: Leptodactylidae. Biocell, 28: 1.

Caldwell, J. P. y Lopez, P. T. 1989. Foam-generating behavior in tadpoles of *Leptodactylus mystaceus*. Copeia, 1989: 498-502.

Chieffi, G., Rastogi, R. K., Iela, L. y Milone, M. 1975. The function of fat bodies in relation to the hypothalamo-hypophysial-gonadal axis in the frog, *Rana esculenta*. Cell and Tissue Research, 161: 157-165.

Chieffi, G., Rastogi, R. K, Milone, M. y Iela, M. 1980. Amphibian reproduction: reproductive physiology in the male *Rana esculenta* L. Italian Journal of Zoology, 47: 63-70.

Downie, J. R. 1984. How *Leptodactylus fuscus* tadpoles make foam, and why. Copeia, 1984: 778-780.

Downie, J. R. 1989. Observations on foam-making by *Leptodactylus fuscus* tadpoles. Herpetological Journal, 1: 351-355.

Downie, J. R. 1990. Temporal changes in the behavior of foam-making *Leptodactylus fuscus* tadpoles. Herpetological Journal, 1: 498-500.

Downie, J. R. 1994. Developmental arrest in *Leptodactylus fuscus* tadpoles (Anura: Leptodactylidae). I: descriptive analysis. Herpetological Journal, 4: 29-38.

Downie, J. R. y Smith, J. 2003. Survival of larval *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae) out of water: developmental differences and interspecific comparisons. Journal of Herpetology, 17: 107-115.

Duellman, W. E. y Trueb, L. 1994. Biology of Amphibians. Baltimore: The John Hopkins University Press.

Echevarría, D. D. y González, B. 1994. Variaciones estacionales en la proporción relativa de los estadios de la oogénesis *en Bufo arenarum* (Anura: Bufonidae). Cuadernos de Herpetología, 8: 30-38.

Fiorito, C., Carou, M. C., Revilla, M. y Lombardo, D. M. 2008. Apoptosis modulation on porcini granulosa cellas. BYA GnRH analog. International Journal of Morphology, 26: 718-786.

Gallardo, J. M. 1958. Observaciones biológicas sobre *Leptodactylus prognathus* Boulenger. Ciencia e Investigación, 14: 460-465.

Gallardo, J. M. 1964. "*Leptodactylus prognathus*" Boul. y "*L. mystacinus*" (Burm.) con sus respectivas especies aliadas. Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia, Instituto Nacional de Investigaciones en Ciencias Naturales (Argentina) Zoología, 9: 91-121.

Gobetti, A. y Zerani, M. 1992. A possible involvement of prostaglandin F2á (PGF2á) in *Rana esculenta* ovulation: effects of mammalian gonadotropin-releasing hormone on in vitro PGF2á and 17ß estradiol production from ovary and oviduct. General and Comparative Endocrinology, 87: 163-170.

Gobetti, A., Petrelli, C. y Zerani, M. 2000. Substance P downregulates basal and gonadotropin-releasing hormone-induced gonadotropin in vitro secretion by pituitary gland of crested newt, *Triturus carnifex*. Journal of Neuroendocrinology, 12: 1160-1166.

Hero, J. M. y Galatti, U. 1990. Characteristics distinguishing *Leptodactylus pentadactylus* and *L. knudseni* in the Central Amazon rainforest. Journal of Herpetology, 24: 226-228.

Heyer, W. R. 1969. The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Evolution, 23: 421-428.

Heyer, W. R. 1978. Systematics of the *fuscus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptdactylidae). Natural History Museum of Los Angeles County Science Bulletin, 29: 1-85.

Hoque, H. y Saidapur, S. K. 1994. Dynamics of oogenesis in the tropical anuran *Rana tigrina* (Amphibia: Ranidae) with special reference to vitellogenic cycles in wild-caught and captive frogs. Journal of Bioscience and Bioengineering, 19: 339-352.

Hoque, B., Saidapur, S. K. y Naik, D. R. 1995. Induction of ovarian follicular development in the subadult frog *Rana tigrina* using luteinizing hormone releasing hormone-acetate. Journal of bioscience, 20: 563-572.

Jörgensen, C. B., Larsen, L. Ï. y Lofts, Â. 1979. Annual cycles of fat bodies and gonads in the toad *Bufo bufo bufo* (L) , compared with cycles in other temperate zone anurans. Biologiske Skrifter, 22: 1-37.

Lavilla, E. O. 2004. Reproducción y desarrollo en anuros argentinos. En: R. Montero y A. Aquino (eds.), Sistemática y Filogenia de los Vertebrados con Énfasis en la Fauna Argentina. Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina.

Martins, I. A. 1996. Reproductive biology of *Leptodactylus podicipinus* (Cope, 1862) (Anura, Leptodactylidae) in the northwest region of the State of São Paulo. Tesis de Maestría, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Milone, M., Caliendo, M. F., Rastogi, R. K. y Chieffi, G. 1983. Seasonal lipid composition in the liver, fat body and gonads of *Rana esculenta*. Italian Journal of Zoology, 50: 227-234.

Pallares Rodriguez, J. 2001. Atresia de los folículos ováricos preantrales de cerda: identificación de diferentes tipos de degeneración celular y tisular. Tesis Doctoral, Murcia, España.

Pancharatna, K. y Patil, M. M. 1997. The role of temperature and photoperiod in the onset of sexual maturity in female frogs, *Rana cyanophlyctis*. Journal of Herpetology, 3: 111-114.

Pancharatna, Ê. y Saidapur, S. Ê. 1990. Role of temperature in regulation of ovarian cycle in bullfrog, *Rana tigrina*. Indian Journal of Experimental Zoology, 28: 806-811.

Pancharatna, Ê. y Saidapur, S. Ê. 1992. A study of ovarian follicular kinetics, oviduct, fat body and liver mass cycles in laboratory maintained *Rana cyanophlyctis* in comparison with wild-caught frogs. Journal of Morphology, 214: 123-129.

Pierantoni, R., Varriale, C. Simeoli, C., Di Mateo, M., Milone, R. K., Rastogi, R. K. y Chieffi, G. 1983. Fat body and autumn recrudescence of the ovary in *Rana esculenta*. Comparative Biochemistry and Physiology, 76A: 31-35.

Ponssa, M. L.y Barrionuevo, J. S. 2008. Foam-generating behaviour in tadpoles of *Leptodactylus latinasus* (Amphibia, Leptodactylidae): significance in systematic. Zootaxa 1884: 51-59.

Prado, C. P. A., Uetanabaro, M. y Haddad, C. F. B. 2002. Description of a new reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. Copeia, 2002: 1128-1133.

Prado, C. P. A., Camargo Abdalla, F., Silva, A. P. Z. y Zina, J. 2004. Late gametogenesis in *Leptodactylus labyrinthicus* (Amphibia, Anura) and some ecological consideration. Brazilian Journal of Morphological Sciences, 21: 177-184.

Prasadmurthy, Y. S. y Saidapur, S. K. 2005. Role of fat bodies in oocyte growth and recruitment in the frog *Rana cyanophlyctis* (Schn.). Journal of Experimental Zoology, 243: 153-162.

Pucci Alcaide, A., Alcaide, M. F., Pucci Alcaide, F. y Lavilla, E. O. 2011. The vesicles of *Phyllomedusa sauvagii* (Anura: Hylidae) nest. South American Journal of Herpetology, 6: 20-26.

Rastogi, R. K., Izzo-Vitiello, I., DiMeglio, M., Dimatteo, L., Franzese, R., Dicostanzo, Ì. G., Minnucci, S., Lela, L. y Chieffi, G. 1983. Ovarian activity and reproduction in the frog *Rana esculenta*. Journal of Zoology (London), 200: 233-247.

Rodríguez Gómez, Y., Sanz Ochotorena, A., Segura Valdez, M. L., Lara Martínez, R. y Jimenez García, L. F. 2010. Morfología del ovario de ranas del género *Eleutherodactylus* (Anura: Leptodactylidae). Acta Microscópica, 19: 271-278.

Saidapur, S. K. y Hoque, B. 1995. Effect of photoperiod and temperature on ovarian cycle of the frog *Rana tigrina* (Daud.). Journal of Bioscience, 20: 445-452.

Saidapur, S. Ê. y Prasadmurthy, Õ. S. 1988. Effects of feeding and starvation on follicular development (ovarian cycle) in the frog *Rana cyanophylctis* (Schn.). Indian Journal of Experimental Biology, 26: 520-524.

Salthe, S. N. y Duellman, W. E. 1973. Quantitative constraints associated with reproductive mode in anurans. En: J. L. Vial (ed.), Evolutionary Biology of the Anurans: Contemporary Research on Major problems. University of Missouri Press, Columbia, pp. 229-249.

Schlaghecke, R. y Blüm, V. 1978. Seasonal variations in fat body metabolism of the green frog *Rana esculenta* (L.). Experientia, 34: 1019-1020.

Shapiro, Â. G. y Shapiro, Ç. A. 1934. Histological changes in the ovaries and ovarian blood vessels of *Xenopus laevis* associated with hypophysectomy, captivity and the normal reproductive cycle. Journal of Experimental Biology, 11: 73-80.

Smalley, Ê. Í. y Nace, G. W. 1983. Vitellogenic cycles in the laboratory-maintained females of the leopard frog, *Rana pipiens*. Journal of Experimental Zoology, 226: 211-219.

Valdez Toledo, C. L. y Pisanó, A. 1980. Fases de la oogenesis en *Bufo arenarum*. Reproducción, 4: 315-330.

Varriale, B., Pierantoni, R., Di Matteo, L., Minucci, S., Milone, M. y Chieffi, G. 1988. Relationship between estradiol-17â seasonal profile and annual vitellogenin content of liver, fat body, plasma, and ovary in the frog (*Rana esculenta*). General and Comparative Endocrinology, 69: 328-334.

APÉNDICE 1

Ejemplares examinados

Leptodactylus latinasus: FML 24358–24373: Finca Nougués, Lules, Tucumán, Argentina. FML 24374–24385: El Ceibal, San Pablo, Lules, Tucumán, Argentina.